

*XII Міжнародна науково-практична конференція магістрантів та аспірантів*

УДК 606

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ФІТОГЕМАГЛЮТИНІНУ НА  
ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ КЛІТИН-ПРОДУЦЕНТІВ****І.Г. ДЯДЕЧКО<sup>1\*</sup>, О.М. ОГУРЦОВ<sup>2</sup>**<sup>1</sup> магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА<sup>2</sup> завідувач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р. фіз.-мат. наук, проф., НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА\*email: [iryna4723@gmail.com](mailto:iryna4723@gmail.com)

Клітинні культури грають важливу роль при виробництві вакцин, біологічно-активних речовин, тощо. Вони є вихідним матеріалом для створення клітин-продуцентів, використовуються у цілях підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин. Клітинні культури використовують при вирішенні таких загально біологічних проблем, як виявлення механізмів диференціювання та проліферації, взаємодія клітин із середовищем, адаптації, злоякісної трансформації. Клітинні культури є зручним об'єктом для вивчення закономірностей мітозу.

Тому розробка підходів для регуляції проліферативної активності в культурі клітин має важливе практичне значення, оскільки активація проліферації клітин може привести до збільшення об'ємів виробництва вакцин, а інгібування може допомогти у вирішенні таких питань як боротьба з онкологічними захворюваннями та іншими патологіями [1].

Актуальність роботи полягає в тому, що на основі знань про поведінку еукаріотичних клітин в культурі в умовах після мітогенної стимуляції, стало можливе підвищення виходу цільових продуктів, котрі продукуються в еукаріотичних клітинах. Метою даної роботи є вивчення поведінки еукаріотичних клітин, а саме лімфоцитів, в умовах після мітогенної стимуляції.

Культура клітин – це популяція певного виду клітин, вирощена *in vitro* на живильному середовищі.

Проліферація – це розмноження клітин, яке відбувається шляхом мітотичних поділів. Мітогени обумовлюють поліклональну або олігоклональну проліферацію лімфоцитів. Першим, випадково виявленим, мітогеном лімфоцитів став лектин фітогемаглютинін (ФГА). ФГА – це сильний мітоген, котрий стимулює перехід клітин із стадії G<sub>2</sub> в мітоз [2].

Для того, щоб виявити проліферативну активність клітин в культурі ми використали метод постановки реакції бластної трансформації лімфоцитів.

Дослідження полягало в підрахунку зрілих лімфоцитів у спонтанній, та стимульованій ФГА реакціях за допомогою світлової імерсійної мікроскопії.

Для культивування клітин лімфоцитів використовували периферичну кров людини з додаванням гепарину. Клітини крові інкубували на живильному середовищі 199 з додаванням ембріональної сироватки телят.

Для культивування готували групи культур: 1 флакон – контроль; 2 флакон – додавали ФГА в якості стимулятора проліферації лімфоцитів. Постановку даного досліджу проводили в стерильному біологічному боксі.

Культивування проводили протягом 72 годин в термостаті при температурі 37°C. Після чого зупиняли ріст культури, відділяли надосадову рідину за допомогою центрифугування на протязі 15 хвилин при 1000 об/хв. Далі осад фіксували оцтовою кислотою та етанолом в співвідношенні 3:1. Потім знову центрифугували протягом 15 хвилин. Відбирали над осадом рідину. Після цього робили мазки осаду з подальшим фарбуванням за Романовським-Гімза на протязі 30 хвилин. Для оцінки проліферативної активності підраховували кількість трансформованих клітин у спонтанній та стимульованій ФГА реакціях.

Завдяки спонтанній реакції ми можемо оцінити проліферативну активність лімфоцитів без стимулу. Стимульована ФГА реакція дозволяє оцінити резерв проліферативної активності.

В нормі кількість трансформованих клітин у спонтанній реакції – 15%, а у стимульованій реакції – 55%. Індекс стимуляції (ІС) – 2,5%.

При дослідженні ми виявили та дослідили дві групи: зі зниженим та з підвищеним рівнем індексу стимуляції.

Знижений рівень індексу стимуляції може бути за таких причин: підвищений рівень трансформованих клітин у спонтанній реакції, що свідчить про запальні процеси або цитотоксичні реакції; або знижений рівень трансформованих клітин у стимульованій реакції, що свідчить про недостатню імунну відповідь на антигени.

Підвищений рівень індексу стимуляції може бути, в основному, за рахунок зниженого рівня трансформованих клітин у спонтанній реакції, що свідчить про гострі інфекційні процеси в організмі.

Інша причина підвищеного рівня індексу стимуляції – підвищений рівень трансформованих клітин у стимульованій реакції, що свідчить про онкологічні захворювання [3].

На основі огляду літературних джерел вивчили поведінку еукаріотичних клітин в культурі в умовах після мітогенної стимуляції. На моделі клітин в культурі вивчили вплив мітогену ФГА на проліферативну активність лімфоцитів. При підрахунку та оцінці всіх результатів можна зробити такі висновки: на проліферативну активність клітин в культурі впливає наявність мітогену та час, протягом якого культивуються клітини, а також природня життєздатність клітин, та їх здатність відповідати на мітоген.

#### **Список літератури:**

1. Дитченко, Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: Курс лекций / Т.И. Дитченко. – Минск : БГУ. – 2007. – 107 с.
2. Ковальчук, Л.В. Иммунология. Практикум / Л.В. Ковальчук, Г.А. Игнатьева, Л. В. Ганковская. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 176 с.
3. Дядечко, І.Г. Поведінка різних популяцій еукаріотичних клітин: дипл. Проект / І. Г. Дядечко. – Харків, 2017. – 42 с.